

研究助成 2021 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	東京大学 大学院医学系研究科
氏 名	伊藤 正道
研 究 テ ー マ	心不全の予防的介入実現のための臓器特異的 DNA 損傷応答・修復機構の解明

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
 (図表、写真などの貼付を含む)

[背景] 心不全はあらゆる心疾患の終末像で、心臓の収縮力が低下して全身の需要に見合う拍出を維持できなくなった病的な状態である。本邦では心不全患者は爆発的に増加しており、予防法・治療法の開発が急務である。疫学研究では、高血圧、糖尿病などの生活習慣病の保因者は心不全発症のリスクが高いと報告されているが、発症前の早期段階の心臓における分子病態は十分理解されておらず、特異的な介入法は確立されていない。

我々はこれまで、圧負荷心不全や遺伝性心筋症などの様々な心不全モデルを用いた研究の結果から、心機能異常出現の共通の分子機序として心筋細胞における DNA 損傷の蓄積とそれに伴う持続的な DNA 損傷応答(DNA damage response; DDR)の亢進が関与することを報告してきた。一般的に心臓では虚血に伴う活性酸素種の産生や DNA 毒性物質への曝露の結果 DNA 損傷を生じ、p53/p21 等の DDR 分子が活性化され、老化やアポトーシス等の変化を生じ心機能破綻に向かう。しかし、ヒト心臓における DDR においてどのような分子がその誘導・抑制に関与しているか、またどのような介入を行えば適切に DDR を抑制できるかは明らかになっていない。

[目的] 本研究の目的は、心筋細胞の DDR の活性化・抑制に関与する分子機構を網羅的に明らかにし、DDR の適切な抑制方法を開発することである。

[方法] 網羅的な遺伝子のスクリーニングを行うため、dCas9-KRAB 恒常発現ヒト iPS 心筋細胞を作成し、DNA 損傷応答関連分子 440 種類に対する sgRNA ライブラリーを構築して CRISPRi スクリーニングを実施した。各遺伝子のノックダウン誘導後、心筋細胞に DDR を誘導する負荷 (H₂O₂ 投与、doxorubicin 投与) を与え、DNA 損傷マーカー分子であるγH2AX、DDR の下流分子である p21 の発現強度をリードアウトとしてヒット遺伝子の探索を行った。

[結果] まず 1 次スクリーニングとして、H₂O₂ 投与下に上記の CRISPR スクリーニングを実施した。その結果、摂動によって DDR が抑制される遺伝子群が 42 個、DDR が亢進する遺伝子群が 30 個同定された。次に 2 次スクリーニングとして、doxorubicin 投与下に CRISPR スクリーニングを行った。その結果、H₂O₂ と共通してノックダウン後に心筋細胞の DDR マーカーの発現が上昇する遺伝子が 4 つあり、その中に SUMO 化に関与する分子 X が同定された。再現性を確認した結果、X のノックダウンによって DDR マーカーの蓄積、細胞死の感受性が高まり、同分子は心筋細胞に保護的な役割を果たしている可能性が示唆された。圧負荷マウスの心筋細胞の遺伝子発現解析では、X の発現は負荷誘導後に減少しており、この分子の発現誘導によって心不全が予防できる可能性が示唆された。

[今後の計画] 現在、X 抑制/過剰発現マウスに圧負荷を誘導した状態での心機能解析を実施しており、心不全における X と DDR の関連性を明らかにする予定である。さらに X の SUMO 化標的とその DDR における役割を明らかにするため、心筋細胞における SUMO 化タンパクの網羅的解析、SUMO 化タンパクの発現や局在変化の検証を実施する予定である。

研究助成 2021 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

所	属	東京大学 大学院医学系研究科
氏	名	伊藤 正道

1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	TEAD1 trapping by the Q353R-Lamin A/C causes dilated cardiomyopathy. Yamada S*, Ko T*, <u>Ito M*</u> , Sassa T*, Nomura S*, Okuma H*, Sato M*, Imasaki T, Kikkawa S, Zhang B, Yamada T, Seki Y, Fujita K, Katoh M, Kubota M, Hatsuse S, Katagiri M, Hayashi H, Hamano M, Takeda N, Morita H, Takada S, Toyoda M, Uchiyama M, Ikeuchi M, Toyooka K, Umezawa A, Yamanishi Y, Nitta R, Aburatani H, Komuro I. Sci Adv. 2023 Apr 14;9(15):eade7047. doi: 10.1126/sciadv.ade7047. Epub 2023 Apr 14.
2	LMNA Mutations and Right Heart Failure in Patients With Cardiomyopathy and With Left Ventricular Assist Devices. Yamada T, Nomura S, Amiya E , Katoh M, Inoue S, Hatsuse S, Fujita K, <u>Ito M</u> , Fujita T, Bujo C, Tsuji M, Ishida J, Ko T, Yamada S, Katagiri M, Sassa T, Kinoshita O, Nawata K, Tobita T, Satoh M, Ishiwata J, Daimon M, Tatsuno K, Fukuda S, Kashimura T, Minamino T, Hatano M, Ono M, Aburatani H, Komuro I. J Card Fail. 2023 May;29(5):855-857. doi: 10.1016/j.cardfail.2023.01.011. Epub 2023 Mar 4. 査読あり
3	How Can We Survive the Heart Failure Pandemic Era? Basic Research for Understanding the Pathophysiology of Heart Failure and Development of Novel Therapies Katoh M, Ko T, Katagiri M, Yamada S, <u>Ito M</u> , Komuro I. J Asian Pacific Soci of Cardiol. 2023;2:e15. DOI:https://doi.org/10.15420/japsc.2022.37 査読あり
4	Cross-ancestry genome-wide analysis of atrial fibrillation unveils disease biology and enables cardioembolic risk prediction. Miyazawa K, Ito K, <u>Ito M</u> , Zou Z, Kubota M, Nomura S, Matsunaga H, Koyama S, Ieki H, Akiyama M, Koike Y, Kurosawa R, Yoshida H, Ozaki K, Onouchi Y; BioBank Japan Project; Takahashi A, Matsuda K, Murakami Y, Aburatani H, Kubo M, Momozawa Y, Terao C, Oki S, Akazawa H, Kamatani Y, Komuro I. Nat Genet. 2023 Feb;55(2):187-197. doi: 10.1038/s41588-022-01284-9. Epub 2023 Jan 19. 査読あり
5	循環器病学の未来 —基本計画から考える循環器病学のグランドデザイン 「循環器病領域における疾患 iPS 細胞の臨床応用のこれまでとこれから」 <u>伊藤正道</u> 「 <u>医学のあゆみ</u> 」2022; 283 巻 14 号 査読なし
6	Heart Failure Pathogenesis Elucidation and New Treatment Method Development. Katagiri M, Yamada S, Katoh M, Ko T, <u>Ito M</u> , Komuro I. JMA J. 2022 Oct 17;5(4):399-406. doi: 10.31662/jmaj.2022-0106. Epub 2022 Aug 1. 査読あり
7	Cardiac fibroblasts regulate the development of heart failure via Htra3-TGF-β-IGFBP7 axis. Ko T, Nomura S, Yamada S, Fujita K, Fujita T, Satoh M, Oka C, Katoh M, <u>Ito M</u> , Katagiri M, Sassa T, Zhang B, Hatsuse S, Yamada T, Harada M, Toko H, Amiya E, Hatano M, Kinoshita O, Nawata K, Abe H, Ushiku T, Ono

8	<p>Functional Evaluation of Human Bioengineered Cardiac Tissue Using iPS Cells Derived from a Patient with Lamin Variant Dilated Cardiomyopathy.</p> <p>Miura K, Matsuura K, Yamasaki Itoyama Y, Sasaki D, Takada T, Furutani Y, Hayama E, <u>Ito M</u>, Nomura S, Morita H, Toyoda M, Umezawa A, Onoue K, Saito Y, Aburatani H, Nakanishi T, Hagiwara N, Komuro I, Shimizu T.</p> <p>Int Heart J. 2022;63(2):338-346. doi: 10.1536/ihj.21-790.</p> <p>査読あり</p>
9	<p>Towards Deeper Phenotyping of the Dilated Cardiomyopathies in Children - Where Are We Now, and Where Are We Heading?</p> <p>Nakagama Y, <u>Ito M</u>. (責任著者)</p> <p>Circ J. 2021 Dec 24;86(1):116-117. doi: 10.1253/circj.CJ-21-0802. Epub 2021 Oct 28.</p> <p>査読あり</p>

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ● 国内外を問わない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2023.7.15	第 135 回日本循環器学会近畿地方会 後藤仁、伊藤正道、尾上健児、野村征太郎、小室一成 「疾患特異的 iPS 細胞を用いた LMNA R225X 変異拡張型心筋症のモデリングと治療薬探索」
2	2022.3.12	The 86 th Annual Scientific Meeting of the Japan Circulation Society <u>Ito M.</u> Impaired Vitamin D Signaling Causes LMNA Mutation-related Cardiomyopathy.
3	2022.3.11	The 86 th Annual Scientific Meeting of the Japan Circulation Society Ito M, Sassa T, Nomura S, Komuro I. Disease modeling and drug discovery for LMNA-mutant dilated cardiomyopathy.
4	2021.10.1	第 25 回日本心不全学会学術集会集會 心不全患者の precision medicine: 現状と将来展望 伊藤正道、ラミン変異拡張型心筋症の発症機序と創薬
5	2021.9.11	The 5th JCS Council Forum on Basic CardioVascular Research Ito M, Katoh M, Sassa T, Fujita K, Nomura S, Matsuura K, Komuro I Exploring drug candidates for LMNA-mutant dilated cardiomyopathy
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	現在投稿中	Circulation 誌 : Ito M et al. LMNA mutation causes dilated cardiomyopathy through impaired vitamin D signaling
2	2023.12.9	The 7 th JCS Council Forum on Basic CardioVascular Research Goto J, <u>Ito M</u> , Onoue K, Nomura S, Komuro I Disease modeling and drug screening of LMNA R225X-mutant dilated
3	2023.12 頃予定	Nat Cardiovasc Res 誌 : Kubota M, Ito M et al. Comprehensive identification of DNA damage response regulators in cardiomyocytes.